Product sheet

Buňky LNCaP | 300265

Obecné informace

Description	Buňky LNCaP, odvozené z metastatického ložiska v lymfatické uzlině pacienta s karcinomem prostaty, představují důležitý nástroj ve výzkumu karcinomu prostaty, zejména pro studium role androgenů a dynamiky androgenních receptorů (AR) v progresi karcinomu. Buněčná linie LNCaP je charakteristická svým růstem citlivým na androgeny a nabízí okno do mechanismů, které jsou základem reakce karcinomu prostaty na hormonální manipulaci. Jako model metastazujícího karcinomu prostaty poskytují rodičovské buňky LNCaP a jejich podlinie, jako je klon LNCaP FGC, klinicky relevantní poznatky o progresi onemocnění, zejména v souvislosti s metastázami do kostí, které vytvářejí osteoblastické léze podobné těm, jež jsou pozorovány u lidského karcinomu prostaty. Buněčná linie lidského karcinomu prostaty LNCaP exprimuje mutovanou formu genu AR s širší specifitou pro vazbu steroidů, a je proto klíčová pro pochopení komplexní interakce mezi aktivitou AR a progresí karcinomu prostaty. To zahrnuje i zkoumání následných cílů AR, jako jsou PSA a NKx3.1, které jsou klíčové pro funkci epiteliálních buněk prostaty. Buňky LNCaP se dále využívají při studiích cytotoxicity, např. vyvolané riplem, nebo potenciálních terapeutických účinků sloučenin, jako je amygdalin, v rámci strategií intracelulárního podávání léčiv. Souhrnně lze říci, že buněčná linie lidského karcinomu prostaty LNCaP slouží jako základní kámen pro pochopení role androgenů v progresi rakoviny a karcinomu prostaty, nabízí pohled na rakovinu reagující na hormony, problémy rezistentního karcinomu prostaty a možnosti terapeutických zásahů. Buněčná linie LNCaP je vedle buněk DU145 a PC3 považována za jednu z klasických a nejpoužívanějších buněčných linií lidského karcinomu prostaty.
Organism	Člověk
Tissue	Prostata
Disease	Karcinom
Metastatic site	Levá nadklíčková lymfatická uzlina
Synonyms	LNCAP, LNCap, Ln-Cap, Karcinom lymfatických uzlin prostaty

Charakteristika

Age	50 let
Gender	Muži
Ethnicity	Kavkazský
Morphology	Epitelu podobné

Buňky LNCaP | 300265

Growth properties	Adherentní, shluky

Regulační údaje

Citation	LNCaP (katalogové číslo Cytion 300265)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0395

Biomolekulární data

Receptors expressed	Androgen, estrogen
Protein expression	P53 pozitivní
Tumorigenic	Ano, u nahých myší
Products	Lidská prostatická kyselá fosfatáza, prostatický specifický antigen
Karyotype	Pseudodiploidní samci, sedm markerových chromozomů, modální počet = 46, rozsah = 33 až 91

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium tepelně aktivovaným 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	60 hodin

Buňky LNCaP | 300265

Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:3 až 1:6
Seeding density	1 až 2 x 10^{4} buněk/cm^{2}
Fluid renewal	Každé 3 dny
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení naneste buňky v množství 5 x 10^{4} buněk/cm^{2} a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky LNCaP | 300265

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky LNCaP | 300265

Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.
Profil STR	**Amelogenin**: x,y **CSF1PO**: 10,11 **D13S317**: 10,12 **D16S539**: 11 **D5S818**: 11,12 **D7S820**: 9.1,10.3 **TH01**: 9 **TPOX**: 8,9 **vWA**: 16,18 **D3S1358**: 16 **D21S11**: 29,31.2 **D18S51**: 11,12 **Penta E**: 12,16 **Penta D**: 12,12.4 **D8S1179**: 12,14 **FGA**: 19,20
Alely HLA	**A***: '01:01:01, '02:01:01 **B***: '08:01:01, '37:01:01 **C***: '06:02:01, '07:01:01 **DRB1***: '03:01:01, '10:01:01 **DQA1***: '01:05:01, '05:01:01 **DQB1***: '02:01:01, '05:01:01 **DPB1***: '02:01:02G, '04:02:01G **E**: '01:01:01